



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**

**ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL  
*Origanum vulgare* (orégano) COMPARADO CON OXACILINA,  
SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC29213**

**TESIS PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE  
MEDICO CIRUJANO**

**AUTORA:**

**CHOQUE YAPU MARIELA**

**ASESORES:**

**DRA. MARIA ROCIO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ**

**MG. LUIS FERNÁNDEZ SOSAYA**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN**

**ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES**

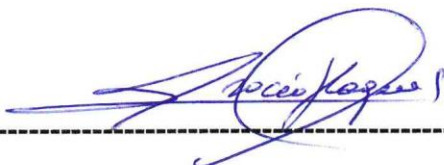
**TRUJILLO – PERÚ**

**2018**

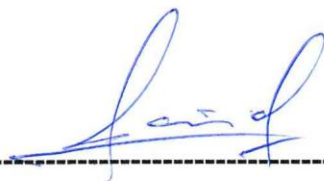
**PAGINA DEL JURADO**  
**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL *Origanum vulgare***  
**(orégano) COMPARADO CON OXACILINA, SOBRE *Staphylococcus aureus***  
**ATCC29213**



**DRA. ANA MARIA CHIAN GARCIA**  
**PRESIDENTE DEL JURADO**



**DRA. MARIA ROCIO DEL PILAR LLAQUE SANCHEZ**  
**SECRETARIA DEL JURADO**



**MG. BLGO. JAIME POLO GAMBOA**  
**VOCAL DEL JURADO**

**Trujillo diciembre del 2018**

### **DEDICATORIA:**

A mis padres Victoria y Francisco por el gran esfuerzo, apoyo incondicional a pesar de la distancia durante todo este tiempo.

A mi hermana Giovanna por sus palabras de ánimo y consejos que ayudaron a continuar luchando por mis anhelos y metas.

**Mariela Choque Yapu**

## **AGRADECIMIENTO:**

### **A Dios:**

Sobre todas las adversidades, me dio fortaleza y me devolvió la calma en momentos de tempestad. A mis queridos padres por poner su confianza en mí en todo momento.

### **A mis asesores:**

María Roció del Pilar Llaque Sánchez, Fernández Sosaya José Luis y Jaime Polo Gamboa. Que con gran esfuerzo, esmero y dedicación me guiaron en todo el proceso hasta culminar con éxito este trabajo.

### **A la universidad Cesar Vallejo:**

Por brindarme sus aulas y a los maestros por instruirme día a día para así llegar a ser una buena profesional.

**Mariela Choque Yapu**

## DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo **Mariela Choque Yapu** con C.E. **001244956**, estudiante de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias Médicas, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y títulos de la Universidad Cesar Vallejo, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompaña a la tesis titulada: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL *Origanum vulgare* (orégano) COMPARADO CON OXACILINA, SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC29213**, Son:

1. De mi autoría
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas, por lo tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido autoplagiada, es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad Cesar Vallejo.

**Trujillo, diciembre del 2018**



**Mariela Choque Yapu**  
**C.E. 001244956**

## **PRESENTACION**

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Cesar Vallejo presento ante ustedes la tesis: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL *Origanum vulgare* (orégano) COMPARADO CON OXACILINA, SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC29213, la cual tiene por objetivo demostrar si existe efecto antibacteriano cuando se asocia el aceite esencial de *Origanum vulgare* con Oxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y de esta forma poder contribuir como coadyuvante contra la mencionada bacteria.

La presente investigación la someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

**Mariela Choque Yapu**

## INDICE

|   |           |
|---|-----------|
| PAGINA DEL JURADO .....   | i         |
| DEDICATORIA .....   | ii        |
| AGRADECIMIENTO .....  | iii       |
| DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD .....  | iv        |
| PRESENTACION.....   | v         |
| INDICE .....  | vi        |
| RESUMEN .....   | vii       |
| ABSTRAC.....  | viii      |
| <b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>   | <b>1</b>  |
| 1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA .....  | 1         |
| 1.2. TRABAJOS PREVIOS .....   | 2         |
| 1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA .....   | 5         |
| 1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....  | 11        |
| 1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO .....  | 11        |
| 1.6. HIPÓTESIS.....   | 12        |
| 1.7. OBJETIVOS .....  | 12        |
| 1.7.1. OBJETIVO GENERAL.....  | 12        |
| 1.7.2. OBJETIVO ESPECÍFICO .....  | 12        |
| <b>II. MÉTODO.....</b>  | <b>13</b> |
| 2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:.....                             | 13        |
| 2.2 VARIABLES Y OPERALIZACIÓN .....   | 14        |
| 2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA .....   | 15        |
| 2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS,<br>VALIDEZ Y CONFIABILIDAD ..... | 16        |
| 2.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS.....   | 17        |
| 2.6 ASPECTOS ÉTICOS: .....  | 17        |
| <b>III. RESULTADOS.....</b>   | <b>18</b> |
| <b>IV. DISCUSION.....</b>   | <b>20</b> |
| <b>V. CONCLUSIONES.....</b>   | <b>22</b> |
| <b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>  | <b>23</b> |
| <b>VII. REFERENCIAS.....</b>  | <b>24</b> |
| <b>VIII. ANEXOS .....</b>   | <b>31</b> |

## RESUMEN

Se evaluó el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) comparado con oxacilina (1µg), in vitro. Se obtuvo diluciones al 100%, 75%, 50%, 25% del aceite y control neutro con solución salina; se realizaron 13 repeticiones con cada grupo. A la dilución de 100% la media del halo de inhibición fue 20.46 mm (DS:  $3.307 \pm 0.917$  IC 95% (18.46 – 22.46)) entre rangos de 16 a 29 mm; al 75% 17.54 mm (DS:  $3.178 \pm 0.882$  IC 95% (15.62 – 19.46)) rango de 14 a 23 mm; al 50% 14.31mm (DS:  $3.860 \pm 1.070$  IC 95% (11.98 – 16.64)) con rango de 10 a 24 mm, valores considerados como eficaces en relación al patrón del CLSI ( $\geq 13$  mm), sin embargo, no supera el halo de inhibición de la Oxacilina que fue de 38.00 mm (DS:  $3.000 \pm 0.832$  IC 95% (36.19 – 39.81)). El análisis estadístico ANOVA fue altamente significativo (0.000) la prueba de Tukey demostró que los grupos evaluados eran homogéneos y el grupo con mayor halo de inhibición fue para la oxacilina, seguido del aceite esencial al 100%, 75%, 50% de la planta en estudio evidenciándose que a mayor concentración el halo de inhibición aumentaba. Se concluye que el aceite esencial de *Origanum vulgare* si tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 sin embargo, estos no superan al halo de inhibición de la oxacilina.

Palabras claves: aceite esencial, *Staphylococcus aureus*, *Origanum vulgare*, orégano.



## ABSTRACT

The antibacterial effect of the essential oil of Oregano leaves *Origanum vulgare* on strains of *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) was evaluated and compared with oxacillin (1µg), in vitro. Dilutions were obtained at 100%, 75%, 50%, and 25% of the oil, and neutral control with saline solution; 13 repetitions were made with each group. At 100% dilution the average zone of inhibition was 20.46 mm (SD:  $3.307 \pm 0.917$  95% CI (18.46 - 22.46)) between ranges of 16 to 29 mm; at 75% 17.54 mm (SD:  $3.178 \pm 0.882$  95% CI (15.62 - 19.46)) between ranges of 14 to 23 mm; at 50% 14.31mm (SD:  $3.860 \pm 1.070$  95% CI (11.98 - 16.64)) between ranges of 10 to 24 mm. These values are considered as effective in relation to the CLSI pattern ( $\geq 13$  mm), however, they do not exceed the zone of inhibition of oxacillin of 38.00 mm (SD:  $3.000 \pm 0.832$  95% CI (36.19 - 39.81)). The statistical analysis ANOVA was highly significant (0.000) and the Tukey test showed that the groups evaluated were homogeneous, and the group with the highest zone of inhibition was for oxacillin, followed by essential oils at 100%, 75%, and 50% concentration of the plant studied, showing that the higher the concentration, the more the zone of inhibition increased. It is concluded that the essential oils of *Origanum vulgare* have an antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* ATCC 29213; however, these do not exceed the zone of inhibition of oxacillin.

Keywords: essential oils, *Staphylococcus aureus*, *Origanum vulgare*, Oregano.

## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA

El *Staphylococcus aureus* se considera como uno de los principales patógenos que posee características de virulencia y resistencia contra antibióticos, tiene una amplia distribución que se extiende a nivel mundial y su impacto en la morbilidad a nivel comunitario e intrahospitalario son las infecciones de heridas expuestas principalmente, lo cual representa un grave problema de salud.<sup>1</sup>

En Perú, el *Staphylococcus aureus* continúa reportándose en primer lugar con una amplia diversidad de infecciones e intoxicaciones en un 55.2% estudio que se realizó en el hospital Cayetano Heredia, así mismo un 29.8% se encontró en el instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas de los cuales el 70.2% provenían de pacientes hospitalizados y un 29,8 % provenían de consultas externas.<sup>2</sup>

En la Libertad, el aislamiento de *Staphylococcus aureus* obtenidas a partir de hisopados nasales fue 47% en los trabajadores de salud de Terapia intensiva del Hospital Regional docente de Trujillo, indicando la persistencia del germen infeccioso que coloniza principalmente la mucosa de las fosas nasales. La incidencia de *Staphylococcus aureus* Resistente Metilina en los trabajadores de administración y asistentes fue 3% incluyendo a portadores nasofaríngeos asintomáticos.<sup>3</sup>

En los últimos años fue tomando más importancia a la amplia diversidad de plantas medicinales como un tratamiento alternativo natural frente a diversas enfermedades, gracias a la accesibilidad para obtenerlas además de ser más económica en comparación con los fármacos convencionales. En el Perú existe una amplia riqueza en cuanto a plantas medicinales, es así que se reconocen aproximadamente 4400 especies, que son de usos conocidos en su mayoría por poblaciones locales de la región Andina.<sup>4</sup>

## 1.2. TRABAJOS PREVIOS

**Lozano E, et al (México, 2014)**, evaluaron los efectos inhibitorios del extracto de orégano y extracto de propóleo contra cepas *Staphylococcus aureus* resistente a la Meticilina (SARM). Se evaluó con dos tipos de extractos: al 20% y al 30%. Utilizaron el método de macro dilución y análisis isoblografico. Se recolecto 25 cepas de *S. aureus* y se usó la cepa ATCC 29213 como control de calidad. Se aplicó ANOVA con diferencia de  $P < 0,05$  entre efectos inhibitorios de los extractos individual, el propóleo al 30% fue más efectivo con un halo de inhibición de  $14.1 \pm 7.10\text{mm}$  y el halo de inhibición control con Oxacilina fue  $15.23 \pm 1.10\text{mm}$  y la combinación de ambos extractos sugiere un efecto sinérgico (halo de inhibición  $16.22\text{mm}$ ). La Concentración Mínima Inhibitoria para cepas SARM  $9.3\text{mg/mL}$ .<sup>5</sup>

**Ortega M, et al (México, 2011)**, evaluaron la composición y actividad contra las bacterias del aceite de orégano, que fue extraído de plantas de dos localidades donde utilizaron el método de hidrodestilación de las hojas de orégano y cromatografía de gases acoplada con espectrometría. La actividad antimicrobiana se elaboró por difusión en disco. La actividad antimicrobiana del aceite esencial varía según el origen de la planta sin embargo tiene una elevada actividad sobre *Escherichia coli* (Halo de Inhibición  $15.2 \pm 6.11$ ), *Staphylococcus aureus* (halo de inhibición  $16.0 \pm 7.42\text{mm}$ ) y el halo de inhibición control con Oxacilina fue  $19.5 \pm 0.7\text{mm}$  por lo que sugieren utilizar en los alimentos.<sup>6</sup>

**Borboa J, et al (México 2010)**, estudiaron la actividad antimicrobiana in vitro de 6 aceites esenciales, donde incluyen al *Origanum vulgare*, contra *Clavibacter michiganensis*, utilizando tres diluciones en cultivo de Caldo nutritivo 0.8%, extracto de levadura 0.2%,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.2%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.025%, agar 1.5% (NBY) además se utilizó dimetilsulfoxido como control negativo y estreptomicina, ácido nadilixico como control de referencia, se puso en incubadora  $30^\circ\text{C}$  por 18 a 24hr y se observó en concentración de 1:1 el halo de inhibición fue  $58.3\text{mm}$ , en 1:5 fue  $45.3 \pm 1.10\text{mm}$  y en 1:10 fue  $31.0 \pm 1.90\text{mm}$  en cambio el halo de inhibición control con

estreptomycin fue 12.42 +/- 0.72mm y con el ácido nadilixico el halo de inhibición fue 0.21mm. Se realizó ANOVA  $p < 0.05$  entre diferentes concentraciones.<sup>7</sup>

**Levario A, et al (México, 2008)**, evaluaron la capacidad de orégano, para inhibir microorganismos patógenos. La metodología fue evaluar su capacidad de producir biomolécula en ensayos cualitativos y cuantitativos. Se preparó infusiones acuosas con 2, 4 y 6% de orégano. Prepararon cultivos con caldo Triple Sugar Iron, donde se introdujo trozos de sonda para formación de biomoléculas y así evaluar la formación de colonias. Se evidencio mayor crecimiento en sondas con contacto del aceite esencial de orégano  $0.71 \times 10^5$  y  $0.44 \times 10^5$  UFC/cm<sup>2</sup>. Concluyendo así que el aceite esencial de orégano tiene efecto bactericida, pero en concentraciones  $> 3000 \text{mg/L}$ .<sup>8</sup>

**Salinas R. (Perú 2018)**, se evaluó la actividad antimicrobiana del aceite esencial del *Origanum vulgare* a concentraciones de 25, 50, 75 y 100ug/ml, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, donde se utilizó el método de difusión en disco Kirby-Bauer en placas Petri, con control positivo Gentamicina 10ug. Los halos de inhibición fueron 11.47mm (25%), 13,40mm (50%), 16,60mm (75%) y 19,65mm (100%), para Gentamicina resulto un halo de inhibición de 30,14mm. Se concluyó que si hay actividad antimicrobiana a mayor concentración.<sup>9</sup>

**Chang A. (Perú 2015)**, valuó el efecto inhibitorio del aceite de *Origanum vulgare* en *Microsporum canis* ATCC 36299. Se utilizó como medio de cultivo agar mycosel, papel filtro embetido con aceite esencial, ketaconazol al 2%, como control positivo y aceite mineral para control negativo. En concentración 30% el halo de inhibición fue 24.55 +/- 1.80mm, en concentración 40% el halo de inhibición fue 24,79 +/- 1.12mm y el halo de inhibición con el ketaconazol fue 22.12 +/- 0.56mm. El aceite de orégano con una densidad 0,975, índice de refracción 1,4801, grado de acidez 5,5 con timol 12,9% y carvacrol 0,41%.<sup>10</sup>

**Vásquez M, et al (Perú, 2014)**, evaluaron el efecto de aceite esencial de *Oreganum vulgare* en la sobrevivencia de *E. aureus*, *Salmonella paratyphi* en carne de cerdo procesada y refrigerada. Se realizó por el método de destilación directa por arrastre con vapor de agua teniendo, así como concentración inhibitoria mínima para *S. typhi*, 3µL/mL; *S. paratyphi* 2µL/mL y *S. aureus*, 1µL/mL misma q se inocularon en 10gr de carne de cerdo que se llevó a refrigeración por 192 horas el recuento se realizó en cultivos de Agar Muller. Concluyeron que el aceite esencial de orégano afecta a mayor medida al *E. aureus* y *Salmonella typhi* en menor medida.<sup>11</sup>

**Maravi G. (Perú 2012)**, evaluó el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* y otras plantas esenciales, sobre *Streptococcus mutans*, comparado con Clorhexidina al 0,12% y agua destilada como control negativo. El aceite se obtuvo por el método de arrastre por vapor de agua y difusión en disco (agar). El aceite del orégano al 100% tuvo un promedio de halo de inhibición 25.72 +/- 1.99mm y con una concentración al 50% el halo de inhibición fue 8.53 +/- 1.10mm mientras que con la clorhexidina su halo fue 14.26 +/- 0.10mm.<sup>12</sup>

**Chávez L, et al (Perú, 2008)**, evaluaron el efecto combinado del aceite de Orégano y Gentamicina sobre cultivo de *E. coli* ATCC 25922. Empleando el método de Kirby Bauer en disco de difusión en 20 placas Petri, para el grupo experimental se utilizó la combinación de Gentamicina (papel filtro) más esencia de orégano 75% y el grupo control solo utilizó Gentamicina (papel filtro) El halo de inhibición promedio del grupo experimental midió 22,375mm mayores que del grupo control 20,75mm, con una Desviación Estándar de 1,46. La prueba Tukey evaluó, diferencia estadística  $p= 0,001$  ( $<0,05$ ). Concluyendo que existe una mejor respuesta con el uso de ambos antibacterianos sobre *E. coli*.<sup>13</sup>

**Albado E, et al, (Perú, 2001)**, evaluaron la actividad microbiana del aceite esencial de *Oreganum vulgare*. Utilizaron el método semicuantitativo de incorporación en disco difusión agar, el aceite se obtuvo por destilación - arrastre con vapor de agua, de flores y hojas, se evaluó la composición por cromatografía de gas con detector

de masa. La densidad fue 0.9234 a 20°C con índice de refracción 1.4774; la cromatografía determinó 12,19% terpineol, 9% carvacrol y 6.86% p-cimeno, mostrando sensibilidad en bacterias Gram negativo: *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *V. cholerae* y bacterias Gram positivas: *S. aureus* además de *Bacillus cereus*, Concluyendo así que la esencia posee actividad microbiana sobre todas las bacterias a estudio, a excepción de *Pseudomona*.<sup>14</sup>

### 1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA

Las mutaciones y adaptaciones de esta bacteria generaron el fenómeno de resistencia a los antibióticos, convirtiéndose en un problema de amplia importancia clínica por su morbilidad y mortalidad comunitaria como hospitalaria a nivel mundial. La resistencia patógena fue surgiendo en los hospitales en consecuencia del uso indiscriminado e inadecuado de antibióticos, el tiempo de tratamiento, las dosis utilizadas y el estado inmunocomprometido (paciente) los hacen propensos a infecciones oportunistas, hace fácil la adaptación y proliferación bacteriana.<sup>15</sup>

El grupo de las penicilinas resistente a penicilinasa, pertenece a la familia de penicilinas semisintéticas, resistente a la acción de penicilinasa de los estafilococos como; cloxacilina, oxacilina, meticilina, dicloxacilina, nafcilina que tiene una estructura que protege a la acción de la beta lactamasa. La resistencia a meticilina de *Staphylococcus aureus* se relaciona a la síntesis de la nueva *PBP* que tiene baja afinidad por la meticilina y beta lactámicos.<sup>16</sup>

Los antibióticos beta lactámicos inhiben la síntesis de la pared de peptidoglucano de la célula bacteriana, sin embargo, la resistencia bacteriana continúa aumentando de manera alarmante. El peptidoglucano es un componente heteropolimérico de la pared celular que proporciona la estabilidad mecánica. Además, se encarga de inhibir el último paso de la síntesis de los peptidoglicanos, la transpeptidación y se facilita por unas transpeptidasas “penicillin binding proteins” (PBPs proteína de anclaje de penicilinas).<sup>16</sup>

El peptidoglucano consta de cadenas de glucano, que son tiras de aminoglúcidos (N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico) entrecruzados a través de cadenas de péptidos. La formación de peptidoglucano ocurre en el citoplasma. La síntesis de UDP-acetilmuramil-pentapéptido se completa con la adición de un dipéptido, la D-alanil-D-alanina. La similitud estructural entre antibióticos beta lactámicos y D-alanil-D-alanina facilita su anclaje al centro activo de las PBPs. Esta unión evita el paso final (transpeptidación) de la formación de la pared peptidoglicanos, interrumpiendo la síntesis de la pared.<sup>17</sup>

La oxacilina es un antibiótico betalactámico (penicilínico) bactericida que inhibe la síntesis de la pared celular de la bacteria evitando la formación de cadenas poliméricas peptidoclicanos, actúa en la unión competitiva de enzima transpeptidasa que utiliza la bacteria para formar enlaces cruzados D-alanil-alanina que es utilizado en la síntesis del peptidoglicano. Su espectro se limita a bacterias gram positivas como estafilococos.<sup>18</sup>

El *Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram (+) tiene forma de racimo de uvas, a veces en forma de cadenas de 0,8 a 1,5  $\mu\text{m}$  de diámetro, son inmóviles y respecto a su metabolismo esta bacteria es anaerobio facultativo, productor de catalasa, coagulasa positivo y oxidasa negativa. Es una bacteria con una fácil adaptación por lo mismo infecta al hombre por que se encuentra en el mismo medio ambiente, ciertas áreas de la flora normal de mucosa y piel.<sup>19</sup> La Taxonomía de esta bacteria es = Filo: Firmicutes, Orden: Baciliales, Familia: Staphylococcaceae, Clase: Schyzomicetes, Género: *Staphylococcus*, Especie: *aureus*.<sup>20</sup>

Se identificaron más de 30 a 35 diferentes especies que se encuentran habitualmente en piel y mucosas de forma normal en el hombre. Es un coco Gram (+) con ausencia de movilidad, tampoco forma esporas. Son anaerobias, pero se desarrollan mejor en condiciones aerobias y se reproducen rápidamente en medios con agar sangre. Las colonias llegan a medir 1 a 3 mm y tienden a presentar un color amarillento por la presencia de carotenoides y produce hemólisis 24 a 36 horas.<sup>21</sup>

Esta bacteria tiene numerosas proteínas en la superficie, es así que una gran variedad de las cepas de *Staphylococcus aureus* contiene el factor coagulasa

ligada, esta es una proteína que determina un factor de virulencia. Además de unirse al fibrinógeno y así convertirse en fibrina insoluble, lo que hace que los estafilococos se encuentren en forma de racimos y cadenas cortas. Por lo tanto, la detección de esta proteína ayuda a la identificación de *Staphylococcus aureus*.<sup>22</sup>

La patogenicidad del *Staphylococcus aureus* está ampliamente relacionada con los componentes del patógeno como el ácido teicoico, péptidoglicanos y proteínas A. es así que la combinación de la disminución de las defensas más los factores de virulencia, condiciona que el estafilococo tenga características de virulencia y causa daño. La situación podría agravarse cuando el patógeno desarrolla múltiples resistencias contra antibióticos, es así que condiciona una mayor dificultad a los tratamientos y la resolución de la enfermedad que ocasiona la bacteria.<sup>23</sup>

El principal reservorio de *Staphylococcus aureus* es el humano, por lo que se encuentra entre el 30 a 50% en portadores sanos especialmente en la mucosa (fosas nasales) y también en pacientes enfermos. El personal clínico son portadores en un 90% aproximadamente.<sup>24</sup>

La colonización puede presentarse a nivel de la mucosa nasal, orofaringe, superficie de la piel, úlceras cutáneas, heridas en etapa de cicatrización, también en la uretra en los pacientes que portan sonda de ahí la importancia al momento de hablar de infecciones nosocomiales.<sup>25</sup>

La colonización de esta bacteria patógena en los seres humanos se da poco después del nacimiento, puede mantenerse hasta la niñez, más tarde en la adultez y así convertirse en portador, siendo así la piel y mucosa nasal el lugar preferido por estos cocos gram positivos. La propagación de la infección por contacto de portadores resistentes a los antibióticos, afectando tracto urinario, vías respiratorias, herida quirúrgica que se asocian a hospitalizaciones prolongadas.<sup>26</sup>



La actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano se debe principalmente a la acción de sus principales componentes fenólicos como el carvacrol, timol, que tienen una amplia actividad bactericida.<sup>27</sup>

Los compuestos fenólicos (carvacrol - timol) interactúa con los lípidos de la membrana citoplasmática causando alteración en la integridad y pérdida de la pared celular, proteínas además de disminución de la fuerza motriz. Es así que el aceite de orégano separa los lípidos de la membrana celular y la mitocondria, debilitando la estructura haciéndola más permeable además altera la concentración de ácidos grasos de la membrana celular es así que afecta de modo preciso la acción y su actividad contra las bacterias gracias a las propiedades del aceite de orégano.<sup>28</sup>

El orégano es una planta mediterránea de Europa. El cultivo se distribuyó hasta Italia, España, Francia, Grecia, Yugoslavia, Albania y Marruecos. En América los Costa Rica, Brasil, México, Chile y Perú en el departamento de Tacna, Moquegua y hasta Arequipa hay una alta producción de orégano.<sup>29</sup>

En Perú se cultiva 02 a 03 especies de orégano: el “Zambito” que generalmente se comercializa con planta fresca. El “Nigra” que producen habitualmente para exportar. Ambas especies son cruzamiento mejorado de “*Origanum majorana*” son la mezcla de subespecies de Orégano vulgaris y Orégano virens.<sup>30</sup>

Etimológicamente el Orégano deriva del griego “oros” (montaña) y “granos” (ornamento) es decir el “ornamento o belleza de la montaña”.<sup>31</sup> La descripción taxonómica y características botánicas de la especie son: Clase: Magnoliopsida, Subclase: Lamiidae, Orden: Lamiales, Superorden: Lamianae, Género: *Origanum*, Familia: Lamiatae, Especie: *Vulgare*, Nombre vulgar: Orégano.<sup>32</sup>

Esta planta es un arbusto con tallos rectos de una altura aproximada 30-90cm ampliamente ramificado, pero pueden adoptar diferentes formas de acuerdo al medio ambiente donde crece, época del año.<sup>33</sup>

El orégano es conocido como “cultivo marginal” ya que pueden crecer perfectamente en suelos con poca humedad, suelos accidentados con baja fertilidad, resiste el frío hasta 5°C pero disminuyendo su desarrollo. Se adapta perfecta a alturas igual o mayor de 3800 m.s.n.m, Es una planta con una raíz muy fasciculada, bastante ramificada pero susceptible a los hongos si se expone a demasiada humedad.<sup>34</sup>

El tallo es cuadrangular, recto y de color verde claro con ciertas áreas rojizas, están ampliamente ramificado en la parte superior de la planta, mientras que la parte inferior tiende a ser más endurecido. Algo característico son los pelos glandulares rellenos de aroma. <sup>34</sup>

Las hojas son simples y al igual que el tallo tiende a ser peciolada. Las hojas del orégano nacen de dos por cada nudo asimismo enfrentadas con pequeños tallos en las hojas inferiores no siendo así en las hojas superiores de la planta, el tamaño depende de la variedad y especie.<sup>35</sup>

Estas hojas de orégano son de color verde pálido y son vellosas por el envés, tiene forma ovalada o elíptica con bordes vellosos con esencia en ambas caras de la hoja. Las flores del orégano forman grupos y se reúnen como “pseudoespigas” son blancas y hermafroditas. La floración se suele iniciar a las 6 a 7 semanas posteriores a la formación del follaje.<sup>36</sup>

El fruto es como una capsula que se forma 15 a 20 días posterior a la floración las mismas que se vuelven amarillentas (indica que ya están madurando) y coincide con la caída de las hojas. La capsula una vez que está madura se abre y expulsa su semilla.<sup>36</sup> El uso culinario que se le da a las hojas de orégano son para dar sabor, aroma a carnes (pollo, cerdo) estofadas y también para darle un sabor extra a los caldos. Además de hacerse famoso por el sabor y aroma que le da, al momento de disfrutar una pizza u otro alimento.<sup>37</sup>

El uso medicinal es aplicado con las hojas y flores ya que contienen propiedades antiespasmódicas, diuréticas, expectorantes, antioxidantes, antisépticas y cicatrizantes. <sup>38</sup> Dentro de los principios esenciales que tiene el orégano son

metabolitos secundarios, especialmente en las hojas y en el tallo son la “resina y el tanino” eso explica el ligero sabor amargo.<sup>39</sup>

Los aceites esenciales presentes en el orégano varían según la subespecie, área geográfica donde se cultiva y está constituido de “timol, carvacrol, pineno, sesterpenos, cimeno, terpineno, cariofileno, eugenol, bergamoteno”. El Timol tiene acción inhibitoria sobre el crecimiento de bacterias y microbios es por eso que es bastante usado en los enjuagues bucales, pastas dentales, además de tener un sabor agradable. Este mismo componente es usado vía oral como base de tratamientos de dolor de garganta, bronquitis, gastritis, dispepsias, diarrea antihelmíntica, entre otros. La aplicación tópica puede prevenir caries, al mismo tiempo combatir con el mal aliento<sup>40</sup>

El carvacrol y timol solos o en concentraciones de aceite esencial de orégano, podría expandirse a través de la matriz de polisacáridos del biofilm y así desestabilizar las propiedades antimicrobianas.<sup>41</sup>

La medicina natural sin duda tiene un papel importante para la medicina moderna, desde hace muchos años atrás los remedios naturales a base de plantas medicinales fueron el principal e incluso único recurso que disponía. Antiguamente en todas las culturas a lo largo y ancho de la tierra y en todo tiempo fueron usando la gran variedad de plantas medicinales propias de cada región con el fin de realizar sus propios medicamentos.<sup>42</sup>

Los aceites esenciales son productos químicos que se forman en esencias odolíferas. Los aceites esenciales son líquidos volátiles, mayormente insoluble en agua, pero si son solubles en éter, alcohol, aceites vegetales y minerales. Generalmente no son oleosos al tacto y pueden agruparse en 5 tipos: alcoholes, aldehídos, lactonas, esterres, cetonas y óxidos. Se conoce que el aceite esencial tiene la función; atractor, repelente, antiséptico, bactericida, sin embargo, debería profundizarse más los estudios para conocer propiedades.<sup>43</sup>

#### **1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿El aceite esencial de las hojas del *Origanum vulgare* (orégano) tiene efecto antibacteriano, comparado con oxacilina a la concentración de 1µg sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, en un estudio in vitro?

#### **1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

Contribuir a tener una mejor calidad de tratamiento complementario para los pacientes, disminuyendo los efectos secundarios que se presentan con un tratamiento farmacológico, además de disminuir costos.

Por medio de esta investigación se pretendió conocer y verificar las propiedades antibióticas del aceite esencial del orégano y poder disponer de otro recurso terapéutico como tratamiento complementario.

Al mismo tiempo con este trabajo se pretende incentivar realizar medicamentos a base de los aceites esenciales de *Oreganum vulgare* (orégano) que tiene efectos secundarios mínimos en comparación de los fármacos convencionales de segunda y tercera generación que son usados en diferentes tratamientos contra los *Staphylococcus aureus*, además de causar efectos secundarios en el paciente.

Se busca incentivar nuevos estudios, que puedan abarcar nuevos agentes patógenos, para contribuir a la disminución de las altas tasas de morbilidad – mortalidad de enfermedades sistémicas en mucosa, piel y tejidos provocadas por el *Staphylococcus aureus*, así mismo disminuir el uso indiscriminado e irracional de varios fármacos convencionales de primera línea, que ayudan a combatir a este patógeno.

## **1.6. HIPÓTESIS**

H<sub>1</sub>: El aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” tiene efecto antibacteriano, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 comparado con oxacilina a la concentración de 1 µg en un estudio in vitro.

H<sub>0</sub>: El aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” no tiene efecto antibacteriano, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 comparado con oxacilina a dosis de 1 µg, en un estudio in vitro.

## **1.7. OBJETIVOS**

### **1.7.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) comparado con oxacilina a dosis de 1 µg, en un estudio in vitro.

### **1.7.2. OBJETIVO ESPECÍFICO**

- Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare*, al 100%.
- Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare*, al 75%.
- Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare*, al 50%.
- Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare*, al 25%.
- Establecer el efecto antimicrobiano de la oxacilina a dosis de 1 µg.

## II. MÉTODO

### 2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:

**TIPO DE INVESTIGACIÓN:** Básico.

**DISEÑO DE INVESTIGACION:** Experimental con repeticiones múltiples, post prueba.

|     |    |    |
|-----|----|----|
| RG1 | X1 | O1 |
| RG2 | X2 | O2 |
| RG3 | X3 | O3 |
| RG4 | X4 | O4 |
| RG5 | X5 | O5 |

Donde:

RG: grupos de estudio

X1: aceite esencial de Origanum vulgare al 25%

X2: aceite esencial de Origanum vulgare al 50%

X3: aceite esencial de Origanum vulgare al 75%

X4: aceite esencial de Origanum vulgare al 100%

X5: tratamiento con Gold estándar: Oxacilina 1ug

O: las observaciones.

## 2.2 VARIABLES Y OPERALIZACIÓN

**Variable Independiente:** tratamiento antimicrobiano para cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

- a) Tratamiento no farmacológico: aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (orégano)
- b) Tratamiento farmacológico: Oxacilina 1ug.

**Variable Dependiente:** efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (orégano)

- a) Eficacia: disminución del halo de inhibición.
- b) No eficaz: aumento del halo de inhibición.

### OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

| VARIABLE   | DEFINICION CONCEPTUAL   | DEFINICIÓN OPERACIONAL   | INDICADORES                                     | ESCALA DE MEDICIÓN  |
|--|---|--|---|---------------------|
| <b>V. I:</b><br>Esquema de tratamiento para cepas de <i>S. aureus</i> ATCC 29213 | <b>Para el tratamiento sobre <i>S. aureus</i> se utiliza:</b><br><br>Tratamiento no farmacológico con orégano <sup>27,28,40</sup><br><br>Tratamiento farmacológico con Oxacilina <sup>16,18</sup> | Sera dividido en los siguientes grupos:<br><br>a) Dilución al 100%<br>b) Dilución al 75%<br>c) Dilución al 50%<br>d) Dilución al 25%<br>e) Oxacilina 1ug | RG1<br>RG2<br>RG3<br>RG4<br>RG5                 | Cualitativa nominal |
| <b>V. D:</b><br>Eficacia del tratamiento   | Es la disminución de Halo con el método Kirby Bauer <sup>44</sup>   | Se considera eficaz si: <sup>44</sup><br><br>a) Sensible $\geq 13\text{mm}$<br>b) Resistente $< 10\text{mm}$   | Eficaz (sensible)<br><br>No eficaz (resistente) | Cualitativa nominal |

## **2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA**

**POBLACIÓN:** Estuvo conformado por el conjunto de placas inoculadas con cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 cultivados en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Cesar Vallejo.

### **MUESTRA:**

Tamaño de muestra: En el estudio se aplicó la siguiente fórmula para diferencia de promedios, en este caso de los halos de inhibición; obteniéndose 13 repeticiones por cada grupo de experimentación (Ver Anexo N°01)

**Unidad de análisis:** Cada una de las cepas.

**Unidad de muestra:** Cada placa Petri de cultivo.

**Muestreo:** Aleatorio no probabilístico.

### **CRITERIOS DE SELECCIÓN:**

#### **Criterios de inclusión:**

- Cepas estándar de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

#### **Criterios de exclusión:**

- Cepas contaminadas de *Staphylococcus aureus*.
- Cultivos de *Staphylococcus aureus* > 24 horas.
- Cepas de *Staphylococcus aureus* que no pudieran ser restablecidas en medio de cultivo.



## **2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD**

### **LA TÉCNICA:**

Consistió en la observación directa de los cultivos en placas Petri.

### **PROCEDIMIENTO:**

- a. Certificación de la planta por parte de la Universidad Antenor Orrego (UPAO). (Anexo N° 02)
- b. Extracción de aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” se obtuvo por medio de la técnica de arrastre de vapor de agua.<sup>48-49</sup> (Ver anexo N° 03)
- c. Técnica de cultivo empleada <sup>44-45</sup>. (Ver anexo N° 04)
- d. Determinación de la sensibilidad bacteriana (eficacia antimicrobiana) la técnica de Kirby Bauer <sup>46 - 50</sup> (Ver anexo N° 05)

### **INSTRUMENTO:**

Se utilizó una Ficha de recolección de datos que consistió en observar las placas Petri, diluciones y halos de inhibición a las 48 y 72 horas. (Ver Anexo N°06).

### **VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO**

El instrumento se validó por 3 profesionales en el área de Microbiología, quienes evaluaron las variables de estudio y los ítems considerados el cual determino si son relevantes al estudio y tienen claridad, objetividad, actualidad, organización, suficiencia, consistencia, coherencia, metodología y oportunidad para su aplicación. (Ver anexo N°07)

Método de experimentación y microbiología ya están validados.<sup>47</sup>

## **2.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS**

La información transcrita en la ficha de recolección de datos, se hizo con el programa Excel y se procesó en la base de datos en el programa SPSS 25 versión para Windows, la información se presentará en tablas y gráficos.

Las pruebas estadísticas aplicadas en el presente estudio experimental fueron: el análisis de varianza ANOVA para evaluar la diferencia entre dos diámetros y para el análisis estadístico de Post ANOVA de Tukey para ver la homogeneidad de la muestra y el grupo que tuvo mayor efecto antibacteriano.

## **2.6 ASPECTOS ÉTICOS:**

El estudio se realizó respetando los criterios de la Normas de Ética en la investigación considerados en la Declaración de Helsinki <sup>47</sup>, considerando que es un estudio experimental sólo tuvo acceso la investigadora y el asesor técnico. Se obtuvo también la aprobación del Comité de Investigación de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo de Trujillo a realizar esta investigación, respetando los niveles de bioseguridad. Normas de PRONAHEBAS del MINSA

### III. RESULTADOS

**Tabla 01: Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas del *Origanum vulgare* “orégano” comparado con oxacilina 1µg, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, estudio in vitro. (VER ANEXO N°06)**

| DATOS DESCRIPTIVOS |    |       |                     |                |  |                 |        |        |
|--------------------|----|-------|---------------------|----------------|--|-----------------|--------|--------|
|                    |    |       |                     |                | 95% del intervalo de confianza para la media |                 |        |        |
|                    | N  | Media | Desviación estándar | Error estándar | Límite inferior                              | Límite superior | Mínimo | Máximo |
| 100%               | 13 | 20.46 | 3.307               | 0.917          | 18.46  | 22.46           | 16     | 29     |
| 75%                | 13 | 17.54 | 3.178               | 0.882          | 15.62  | 19.46           | 14     | 23     |
| 50%                | 13 | 14.31 | 3.860               | 1.070          | 11.98  | 16.64           | 10     | 24     |
| 25%                | 13 | 12.00 | 1.871               | 0.519          | 10.87  | 13.13           | 9      | 16     |
| Oxacilina          | 13 | 38.00 | 3.000               | 0.832          | 36.19  | 39.81           | 34     | 44     |
| Total              | 65 | 20.46 | 9.774               | 1.212          | 18.04  | 22.88           | 9      | 44     |

Fuente: Reporte de resultados SPSS versión 25

**Tabla 02: Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas del *Origanum vulgare* “orégano” comparado con oxacilina 1µg, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, estudio in vitro**

#### ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA

| Extractos        |                   |    |                  |         |       |
|------------------|-------------------|----|------------------|---------|-------|
|                  | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F       | Sig.  |
| Entre grupos     | 5532.923          | 4  | 1383.231         | 142.790 | 0.000 |
| Dentro de grupos | 581.231           | 60 | 9.687            |         |       |
| Total            | 6114.154          | 64 |                  |         |       |

Fuente: Reporte de resultados SPSS versión 25

**Tabla 03: Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas del *Origanum vulgare* “orégano” comparado con oxacilina 1µg, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, estudio in vitro**

### PRUEBAS POST HOC TUKEY

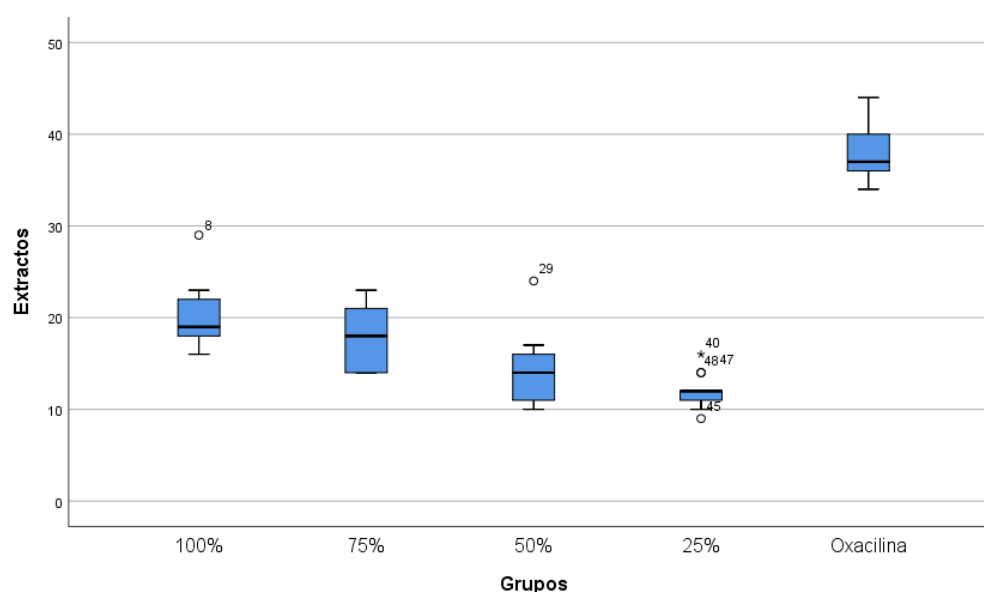
| Extractos              |    |                              |       |       |       |
|------------------------|----|------------------------------|-------|-------|-------|
| HSD Tukey <sup>a</sup> |    |                              |       |       |       |
| Grupos                 | N  | Subconjunto para alfa = 0.05 |       |       |       |
|                        |    | 1                            | 2     | 3     | 4     |
| 25%                    | 13 | 12.00                        |       |       |       |
| 50%                    | 13 | 14.31                        | 14.31 |       |       |
| 75%                    | 13 |                              | 17.54 | 17.54 |       |
| 100%                   | 13 |                              |       | 20.46 |       |
| Oxacilina              | 13 |                              |       |       | 38.00 |
| Sig.                   |    | 0.334                        | 0.075 | 0.131 | 1.000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 13,000.

**Fuente: Reporte de resultados SPSS versión 25**

**Gráfico 01: Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas del *Origanum vulgare* “orégano” comparado con oxacilina 1µg, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, estudio in vitro**



**Fuente: Reporte de resultados SPSS versión 25**

#### IV. DISCUSION

El objetivo de estudio fue evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y se estableció grupos de dilución al 100%, 75%, 50%, 25%.

En la evaluación de la media de los diámetros promedios de inhibición antibacteriana (Tabla 01) se observa que a partir de las diluciones de 100%, 75%, 50% y los halos de inhibición son mayores de 13 mm, significando que estas diluciones presentan efecto antibacteriano según el estándar del CLSI ( $\geq 13$  mm). Al 100% la media del halo de inhibición es 20.46 mm (DS:  $3.07 \pm 0.917$  IC 95%: 18.46 – 22.46) entre los rangos de 16 a 29 mm de halo de inhibición.

Al 75% el halo es de 17.54 mm (DS:  $3.178 \pm 0.882$  IC 95% (15.62 – 19.46)) y a la concentración de 50% el halo fue de 14.31mm (DS:  $3.860 \pm 1.070$  IC 95% (11.98 – 16.64)). Se evidencia que a mayor concentración mayor es el halo de inhibición.

Estadísticamente (Tabla 02) la prueba ANOVA (0.000) muestra que es estudio es altamente significativo y Tukey (Tabla 03) refleja la homogeneidad de la muestra y los resultados. Se puede evidenciar en el Gráfico 01, se puede visualizar que al aumentar la concentración (a partir de 50% al 100%) se evidencia que existe buen efecto antibacteriano, sin embargo, estos no superan al halo de inhibición de la oxacilina (38 mm).

Los resultados encontrados en esta investigación son similares a **Maravi G. (Perú 2012)**, donde a concentraciones al 100% tuvo un promedio de halo de inhibición 25.72 +/- 1.99mm y al 50% el halo de inhibición fue 8.53 +/- 1.10mm.<sup>12</sup> **Chávez L, et al (Perú, 2008)**, utilizó concentración al 75% que llegó a medir 22,37mm mayores que del grupo control 20,75mm (Gentamicina).<sup>13</sup> **Salinas R. (Perú 2018)**, obtuvo halos de inhibición 11.47mm (25%), 13,40mm (50%), 16,60mm (75%) y 19,65mm (100%), para Gentamicina resultó un halo de inhibición de 30,14mm. Todos concluyen que si hay actividad antibacteriana a mayor concentración.<sup>9</sup>

Pero son menores a los de **Lozano E, et al (México, 2014)**, donde a una concentración al 30% el halo de inhibición fue  $14.1 \pm 7.10\text{mm}$  y con Oxacilina fue  $15.23 \pm 1.10\text{mm}$ .<sup>5</sup> **Ortega M, et al (México, 2011)**, a una concentración al 100% sobre *Staphylococcus aureus* (halo de inhibición  $16.0 \pm 7.42\text{mm}$ ) y el halo de inhibición control con Oxacilina fue  $19.5 \pm 0.7\text{mm}$ .<sup>7</sup>

## V. CONCLUSIONES

- El aceite de *Origanum vulgare* “orégano” demostró tener efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* según CLSI ( $\geq 13$ )
- A la dilución 100% la media del halo de inhibición es 20.46 mm.
- A la dilución de 75% la media del halo de inhibición fue de 17.54 mm.
- A la dilución 50% la media del halo de inhibición fue de 14.31mm.
- A la dilución 25% la media del halo de inhibición fue 12.00 mm.
- La oxacilina tuvo una media del halo de inhibición de 38.00 mm.

## VI. RECOMENDACIONES

1. Ampliar estudio y probar el efecto antibacteriano con bacterias Gram positivas y Gram negativas.
2. Ampliar más el estudio de sinergia de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” frente a otros fármacos de interés terapéutico en el tratamiento de afecciones frente a *Staphylococcus aureus*.
3. Utilizar el producto como tratamiento coadyuvante a un tratamiento antibiótico convencional.
4. Elaborar un trabajo en animales vivos en bioterio.
5. Comparar la planta con otras las mismas especies de otra localidad para poder ver si las propiedades implican en los resultados.



## VII. REFERENCIAS

1. Zendejas G, Avalos H, Soto M, Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y método de identificación. Revista Biomédica. 2014;25 (3);129-143. Consultado 2016 noviembre 15. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>
2. Tamariz J, Cruz J, Atencia A, Figueroa J, Horna G, Guerra H. Resistencia a clindamicina inducida por Eritromicina en *Staphylococcus aureus* aislados de tres hospitales de Lima, Perú. Acta médica peruana. 2009;26 (1):12-16. Consultado 2016 noviembre 18. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S172859172009000100006&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S172859172009000100006&script=sci_arttext)
3. Ávila E, Identificación y caracterización de *Staphylococcus aureus* Meticilino Resistente (SAMR) en personal de las unidades de terapia intensiva del Hospital regional docente de Trujillo – La Libertad – 2013. Biólogo – microbiólogo. 2013: 24(2):343-348. Consultado 2016 julio 21. Disponible en: <file:///C:/Users/Core%20i5/Desktop/12vo%20UCV%20medicina/Tesis/Sthaphylococcus%20aureus%20La%20libertad%20trujillo.pdf>
4. Huamantupa I, Cuba M, Urrunaga R, Paz E, Ananya N, et. al. Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los mercados de la ciudad del Cusco. Rev. Peruana de Biología. 2011. 18 (3):283-291. Consultado 2016 septiembre 04. Disponible en: <file:///C:/Users/Core%20i5/Downloads/439-1567-1-PB.pdf>
5. Lozano E, López O, Bocanegra M, Davis L, Flores L, Cervantes M. Interacción sinérgica de propóleo (Propolis) y orégano (*Lippia graveolens* Kunth s.l.) contra *Staphylococcus aureus*. Revista Mexicana de ciencias Farmacéuticas. 2013. 44 (4):73-78. Consultado 2016 septiembre 05. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/579/57930578009.pdf>
6. Ortega M, Robles R, Acedo E, González A, Morales A, Vázquez L. Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de Orégano (*Lippia palmeri* S. WATS). Revista de Fitotecnia Mexicana. 2011:34 (1):11- 17. Consultado 2016 junio 11. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S018773802011000100004](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018773802011000100004)

7. Borboa J, Rueda E, Acedo E, Ponce J, Cruz M, et al. Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro de aceites esenciales contra *Clavibacter michiganensis* subespecie *michiganensis*. Rev. Trpical and subtropical Agroecosystems. 2010: 12 (3): 539-547. Consultado 2017 mayo 21. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/939/93915170014.pdf>
8. Levario A, González M, Nevarez V. Orégano como antimicrobiano frente a cepas Multirresistentes. XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. 2008;1 (1):1-1. Consultado 2016 septiembre 02. Disponible en: <http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/queretaro11/TRABAJOS/trabajos/VIII/carteles/CVIII-38.pdf>
9. Salinas R. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano" frente a *Staphylococcus aureus*. (Tesis de pre grado). Universidad Norbert Wiener. Perú 2018. Pags 73. Consultado 2018 septiembre 20. Disponible en: <file:///F:/tesis%20Marie/5%20Salinas%20Segura,%20Roger.pdf>
10. Chang A. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) en el crecimiento de *Microsporum canis*. (Tesis de pre-grado). Universidad Alas Peruanas. Perú 2015. Pags 91. Consultado 2017 marzo 27. Disponible en: <http://repositorio.uap.edu.pe/handle/uap/944>
11. Vásquez M, Alvarado P, Rodríguez I, Saldaña W, Reyes W, Vargas A. Efecto del aceite esencial de *Origanum vulgare* en la supervivencia de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypi*, *Salmonella paratyphi* y *Salmonella enteritidis* en carne de cerdo pasteurizada y refrigerada. REBIOL. 2014;34 (1):57-68. Consultado 2016 septiembre 10. Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/facccbiol/article/view/589>
12. Maravi G. Efecto antimicrobiano y anti fúngico del aceite esencial de: *Mentha piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *Cándida albicans* ATCC 90028. (Tesis de pre-grado). Universidad privada Norbest Wiener. Perú 2012. Pags. 92. Consultado junio 07. Disponible en: <http://www.cop.org.pe/bib/tesis/GISELLA%20GIOVANNA%20MARAVI%20ING A.pdf>

13. Chávez L, Díaz F, Escalante G, Estrada E. Efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum vulgare* a la Gentamicina en cultivos de *Escherichia coli*. CIMEL. 2008; 13 (2):45-48. Consultado septiembre 09. Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/cimel/v13\\_n2/pdf/a03v13n2.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/cimel/v13_n2/pdf/a03v13n2.pdf)
14. Albado E, Flores G, Ataucusi S. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). Revista Médica de Hered. Perú 2001; 12 (1): 16-19. Consultado 2016 junio 20. Disponible: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X2001000100004](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2001000100004)
15. Braunwald E, Fauci A, Hauser's, Principios de Medicina Interna. 16º Edición. México. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. 2006. 1256-1258.
16. Raffa R, Rawls S, Portyansky E, Farmacología ilustrada. 6º Edición. España. Netter's Illustrated Pharmacology. 2008. 1002-1006.
17. Dandan R, Brunton L, Goodman y Gilman. Las Bases farmacológicas de la terapéutica. 12º Edición. Estados Unidos. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. 2008. 562-570
18. Margor L, Valsecia M. Farmacología Médica. 4º Edición. Costa Rica. Editorial UNNE. 2004. 953-958.
19. Datavio B. *Staphylococcus aureus*. Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo. 2012. 5 (1), 1-4. Consultado 2017 marzo 14. Disponible en: <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agente%20biologicos/Fichas/Bacterias/Staphylococcus%20aureus.pdf>
20. Bustos J, Hamdan A, Gutiérrez M. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev. Biomed. 2006. 17 (4), 287-305. Consultado 2017 abril 20. Disponible en: <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb061746.pdf>
21. Cervantes E, García R, Salazar P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. Revista Latinoamericana de Patología Clínica. 2014. 61 (1), 28-40. Consultado 2017 junio 07. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
22. Eliká E. *Staphylococcus aureus*. Fundación Vasca para la seguridad Agroalimentaria. 2013. 20 (1), 1-4. Consultado 2017 mayo 25. Disponible en: [http://www.elika.eus/datos/pdfs\\_agrupados/Documento95/7.Staphylococcus.pdf](http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento95/7.Staphylococcus.pdf)

23. Camarena J. Sánchez R. Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina. Control Calidad SEIMC. 2012. 5 (1), 1-5. Consultado 2017 marzo 18. Disponible en:  
<https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/sarm.pdf>
24. Espíritu V. Microbiología Médica. Taxonomía microbiana. 1ra Edición. Barcelona. 2004. Consultado 2017 mayo 23. Disponible en:  
<https://es.scribd.com/document/330314641/tema03-pdf>
25. Ávila E. Identificación y caracterización de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM) en personal de las Unidades de terapia intensiva del Hospital Regional Docente de Trujillo – La Libertad – 2013. Microbiología molecular y biotecnología. 2013. 24 (2), 343 – 348. Consultado 2017 marzo 20. Disponible en:  
<http://journal.upao.edu.pe/PuebloContinente/article/view/50/49>
26. Mendoza C. Velásquez R. Mercado L. Ballon J.et. al. Suceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* sensible, con sensibilidad “Borderline” y resistentes a la Meticilina. Rev. Med. Hered.2003. 14 (4), 181 – 185. Consultado 2017 abril 16. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X2003000400006](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2003000400006)
27. Lambert R., Skandamis P., Coote P. and Nychas G. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J. Appl. Microbiol. 2001. 15 (6):453-462. Consultado 2017 junio 19. Disponible en:  
<http://naturalingredient.org/wp/wpcontent/uploads/Mode-of-action-of-Oregano-essential-oil.pdf>
28. Muñoz A, Castañeda M, Blanco K, Cardenas C, et al. Composición y capacidad antioxidante de especies aromáticas y medicinales con alto contenido de timol y carvacrol. Scientia el Technica. 2007. 13 (33); 125-128. Consultado 2017 junio 20. Disponible en:  
[file:///C:/Users/Core%20i5/Downloads/Composicion\\_y\\_capacidad\\_antioxidante\\_de\\_especies\\_a.pdf](file:///C:/Users/Core%20i5/Downloads/Composicion_y_capacidad_antioxidante_de_especies_a.pdf)
29. Klauer D. Manual técnico de cultivo Ecológico de Orégano (*Origanum* sp L.) 1<sup>ra</sup> edición, Perú. Edición Nilo Cruz Cuentas. 2009; 60. Consultado 2017 abril 22. Disponible en:

<http://www.ecoagricultor.com/wp-content/uploads/2014/01/manual-cultivo-ecologico-oregano.pdf>

30. Paunero I. Mejoramiento genético en plantas aromáticas. Conferencia en el XXXV congreso Argentino de Horticultura. Corrientes. 2012: 4(1), 1-4. Consultado 2017 abril 12. Disponible en:  
<http://inta.gob.ar/documentos/mejoramiento-genetico-en-plantas-aromaticas>
31. Guerra L. Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de aceites esenciales de plantas usadas en medicina tradicional. (Tesis post-grado) Universidad Autónoma de Nuevo León. México 2011. Pags.118. Consultado 2016 junio 17. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/2455/1/1080223835.pdf>
32. Muñoz L. Plantas Medicinales Españolas: *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) (orégano). Acta Botánica Malacitana. 2002; 27(1):273-280. Consultado 2016 octubre 05. Disponible en:  
[http://www.biolveg.uma.es/abm/volumenes/vol27/27\\_munozcenteno.pdf](http://www.biolveg.uma.es/abm/volumenes/vol27/27_munozcenteno.pdf)
33. Aguilar X, Valle G, González R, El cultivo del orégano. En: Murillo B. Guía de cultivo de orégano. Edición 1<sup>ra</sup> en español. Centro de Investigaciones Biológicas – México. 2013. 32-42. Consultado 2017 marzo 03. Disponible en:  
<http://docplayer.es/3436804-Guia-de-cultivo-de-oregano.html>
34. Morales R, Pascual H, Tardío J. Orégano. Jardín botánico de Madrid. 2012: 2(1): 10-11. Consultado 2017 marzo 22. Disponible en:  
<http://www.rjb.csic.es/jardinbotanico/ficheros/documentos/pdf/pubinv/RMV/225/Or%C3%A9gano.pdf>
35. Linares N, Orégano (*Origanum vulgare*). Plantas medicinales – Cuaderno de trabajo. 1<sup>ra</sup> Edición. Centro de empresas de Loches UPA Madrid. 2013. 67. Consultado 2017 abril 03. Disponible en:  
[http://www.fademur.es/\\_documentos/ponencias/Ponencia\\_Fademur\\_farmacia\\_OK.pdf](http://www.fademur.es/_documentos/ponencias/Ponencia_Fademur_farmacia_OK.pdf)
36. Ardila M, Vargas A, Pérez J, Mejía L. Ensayo preliminar de la actividad antibacteriana de extractos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* frente a *Clostridium perfringens*. Biosalud.2009;3 (8):47-57. Consultado 2016 agosto 14. Disponible en:

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1657-95502009000100007](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502009000100007)

37. Cameroni G. Ficha técnica de Orégano “*Origanum vulgare*” 1ra Edición, Argentina. Agregado de valor y nuevas tecnologías 2013: 6. Consultado 2017 mayo 12. Disponible en: [http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/aromaticas/productos/Oregano\\_2013\\_03Mar.pdf](http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/aromaticas/productos/Oregano_2013_03Mar.pdf)
38. Arcila C. Loarca G. Lecona S. González E. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. Scielo – Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 2004. 54 (1), 100-111. Consultado 2017 junio 06. Disponible en: <file:///C:/Users/Core%20i5/Downloads/Arcila-LozanoETAL2004.pdf>
39. Acevedo D. Navarro M. Monroy L. Composición Química del aceite esencial de hojas de Orégano (*Origanum vulgare*). Información tecnológica. 2013. 24 (4), 43-48. Consultado 2017 Abril 15. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-07642013000400005](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642013000400005)
40. Lambert R. Skandamis P. Coote P. Nychas G. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. PUBMED. 2009: 106 (5), 1558-1568. Consultado 2017 mayo 04. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11556910>
41. Blanco R. Roccaro A. Spoto G. Nostro A. et.al. Epigallocatechin gallate inhibits Biofilm Formation by ocular Staphylococcal isolates. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2005. 49 (10), 4339-4343. Consultado 2017 abril 13. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1251539/>
42. Quesada A. Las plantas medicinales. Revista Biocenosis. 2008. 21 (1-2), 20-23. Consultado 2017 21 junio. Disponible en: [file:///C:/Users/Core%20i5/Downloads/1268-2832-1-SM%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Core%20i5/Downloads/1268-2832-1-SM%20(1).pdf)
43. Salamanca M, Sánchez M. Extracción y caracterización de la Oleorresina del Orégano (*Origanum vulgare*). (Tesis de pre-grado). Universidad Tecnológica de Pereira. Colombia 2009. Pags.94. Consultado 2016 agosto 10. Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/1839/6650282S159.pdf;jsessionid=A483BC505D0117448D4BE58C458A382A?sequence=1>

44. Juliet C. Estudio de susceptibilidad in vitro de Staphylococcus spp. Revista Chilena de infectología. 2002. 19 (2), 116 – 118. Consultado 2017 junio 09. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v19s2/art10.pdf>
45. Epidat. Ayuda de muestreo. 2014. 2 (1), 89. Consultado 2017 mayo 18. Disponible en: [https://www.sergas.es/gal/documentacionTecnica/docs/SaudePublica/Apli/Epidat4/Ayuda/Ayuda\\_Epidat4\\_Muestreo\\_Octubre2014.pdf](https://www.sergas.es/gal/documentacionTecnica/docs/SaudePublica/Apli/Epidat4/Ayuda/Ayuda_Epidat4_Muestreo_Octubre2014.pdf)
46. Sacaquispe R. Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Ministerio de Salud del Perú. 2002. 18 (2), 13 – 22. Consultado 2017 junio 01. Disponible en: [http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua\\_l%20sensibilidad.pdf](http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua_l%20sensibilidad.pdf)
47. Asociación Médica Mundial Declaración de Helsinki de la AMM – Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos 2018 Disponible en: <https://www.wma.net/es/polices-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>
48. Introducción a la industria de los aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas. Sena. Consultado 2018 agosto 2018. Disponible en: <file:///F:/REFERENCIAS%20TESIS/ACEITES%20ESENCIALES%20EXTRAID OS%20DE%20PLANTAS%20MEDICINALES%20Y%20AROMATICAS.pdf>
49. Peredo H, Palou E, García A, López M, Aceites esenciales: métodos de extracción. Departamento de ingeniería química. México. 2009. 3 (1), 24-32. Consultado 2017 octubre 11. Disponible en: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf)
50. Melvin P, Jean B, Shelley C, et.al. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). USA. 2018. 100 (28) 20-61. Consultado 2018 agosto 11. Disponible en: <file:///F:/REFERENCIAS%20TESIS/CLSI-2018-M100.pdf>

## VIII. ANEXOS

### ANEXO N° 01 TAMAÑO DE MUESTRA

Por tratarse de un trabajo experimental, se empleó la fórmula estadística de diferencia de promedio sobre halos de inhibición, para el cálculo del número de placas necesarias que validen el diseño experimental. Se calculó mediante la fórmula (Machin 1997, p 102)<sup>45</sup>

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

**Donde:**

$$Z_{\alpha/2} = 1.96$$

$$Z_{\beta} = 0.842$$

$X_1 = 22.37\text{mm}$ , diámetro de halo de inhibición del aceite esencial *Origanum vulgare* (orégano).<sup>13</sup>

$X_2 = 20.75\text{ mm}$ , diámetro de halo de inhibición con Vancomicina.<sup>13</sup>

$$\sigma^2 = 1.46\text{mm}.$$

**Reemplazando:**

$$n = \frac{(1.96 + 0.842)^2 2 (1.46)^2}{(22.37 - 20.75)^2}$$

$$n = \frac{(2.802)^2 2 (2.1316)^2}{(1.62)^2}$$

$$n = \frac{33.47}{2.62} \quad n = 12.77$$

Se consideró **13 repeticiones por cada grupo de estudio.**



## ANEXO N°02



**UPAO**

Museo de Historia Natural y Cultural

### HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

#### CONSTANCIA N° 20-2017-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

### CONSTANCIA

Que **Mariela Choque Yapu**, estudiante de la carrera profesional de Medicina Humana de la Universidad César Vallejo, ha solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

*Origanum vulgare* L. (Lamiaceae)

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: "Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (orégano) comparado con oxacilina, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, estudio *in vitro*".

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que correspondan.

Trujillo, 11 de diciembre de 2017



*Segundo Leiva González*  
Segundo Leiva González  
DIRECTOR  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL Y CULTURAL

## CERTIFICACIÓN DE LA PLANTA



## ANEXO N°03

### PROCEDIMIENTO

#### 1. Tratamiento de la muestra

Las plantas frescas de *Origanum vulgare* “orégano”, se obtuvieron en el mercado La Hermelinda de Trujillo, procedentes de la localidad de Otuzco, en una cantidad de 5 a 6 Kg aproximadamente y se llevaron al laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo, donde se seleccionaron los ejemplares con buenas condiciones; de este modo, se obtuvo la “muestra fresca” (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada, se colocó sobre una bandeja de cartulina y se llevó a un horno a 40-45°C por 3-4 días donde se deshidrató. Después, se estrujó manualmente el vegetal seco hasta que se obtuvo partículas muy pequeñas y se reservó almacenándolas herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como “muestra seca” (MS).



#### 2. Obtención del Aceite Esencial

El aceite esencial de *Origanum vulgare* se obtuvo por el método de arrastre de vapor de agua; para ello, en un balón de 2 L se colocó 1,5 L de agua destilada y en un balón de 4 L se colocó la MS hasta que llenó las 3/4 partes del balón. Ambos balones se taparon herméticamente y estuvieron conectados a través de un ducto. Al mismo tiempo el balón con la MS estuvo conectado a un condensador recto (refrigerante), el cual desembocó en un embudo decantador tipo pera. De tal modo que, el Balón con agua se calentó con una cocina eléctrica y el vapor de agua pasó a través del ducto hacia el Balón con la MS y



arrastró los componentes fitoquímicos (incluido los lípidos). Este vapor se condujo hacia el condensador en donde se convirtió en líquido que fue recepcionado por el decantador tipo pera. Este líquido se disoció en dos fases, quedando el aceite en la superficie por diferencia de densidades. Este proceso se realizó en 2 horas. De este modo, se obtuvo el Aceite Esencial (AE) considerado al 100%; el cual se colocó en un frasco de vidrio ámbar y se reservó a 4°C hasta su utilización.

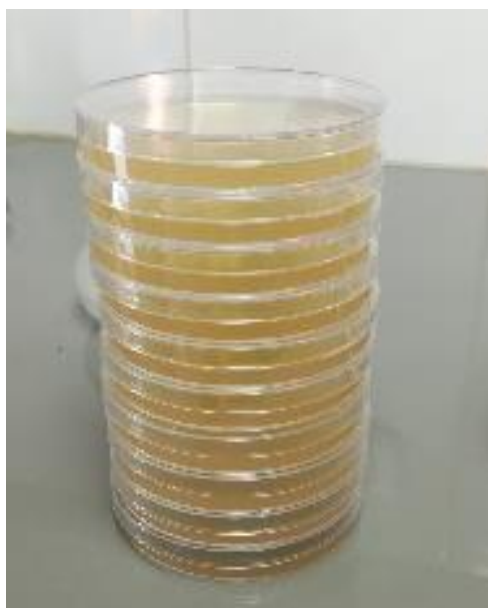


## ANEXO N°04

### TÉCNICA DE CULTIVO EMPLEADA

#### 3. Preparación del medio de cultivo

Se utilizó agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 10 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente.



## ANEXO N°05

### DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD BACTERIANA (EFICACIA ANTIMICROBIANA) LA TÉCNICA DE KIRBY BAUER

#### 4. Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar)

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M02-A12 y M100.

##### a) Preparación del inóculo

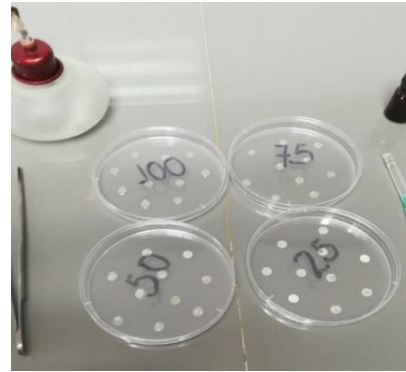
El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Origanum vulgare*, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/ml aprox.)

##### b) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Origanum vulgare*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.

##### c) Preparación de las concentraciones del AE

A partir del AE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 µL de AE y 250 µL de DMSO al tubo de 75%, 500 µL de AE y 500 µL de DMSO al tubo de 50%, y 250 µL de AE y 750 µL de DMSO al tubo de 25%.



d) Preparación de los discos de sensibilidad con AE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10  $\mu$ L en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10  $\mu$ L de AE al 25% y se colocó en un disco, 10  $\mu$ L de AE al 50% en otro disco, 10  $\mu$ L de AE al 75% en otro disco y 10  $\mu$ L de AE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.

e) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con AE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Origanum vulgare*, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con oxacilina (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.





a) Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de AE de *Origanum vulgare* y para la oxacilina. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.

*Antibióticos y Diámetros Críticos para Staphylococcus spp.*

| ANTIMICROBIANO                      | CONTENIDO DEL DISCO | DIAMETRO EN mm |       |     |
|-------------------------------------|---------------------|----------------|-------|-----|
|                                     |                     | R              | I     | S   |
| PENICILINAS                         |                     |                |       |     |
| Penicilina                          | 10 unidades         | £ 28           | -     | ³29 |
| Oxacilina (S. Aureus)               | 1 µg                | £ 10           | 11-12 | ³13 |
| (Estafilococos coagulasa negativos) | 1 µg                | £ 17           | -     | ³18 |





## ANEXO Nº 06

### FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA MEDIR EL TAMAÑO DE LOS HALOS DE INHIBICION SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

| <b>PATOGENO</b><br><i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC 29213 | <b>CONCENTRACION DEL ACEITE ESENCIAL <i>Origanum vulgare</i> "OREGANO"</b> |            |            |             | <b>CONTROL POSITIVO</b> | <b>CONTROL NEGATIVO</b> |
|---|--|------------|------------|-------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>N° de Muestras</b>   | <b>DIAMETRO DE HALO DE INHIBICION (mm)</b>                                 |            |            |             |                         |                         |
|   | <b>25%</b>   | <b>50%</b> | <b>75%</b> | <b>100%</b> | <b>Oxacilina</b>        | <b>Solución salina</b>  |
| Placa 1   | 16   | 15         | 21         | 19          | 40                      | 0                       |
| Placa 2   | 12   | 16         | 16         | 18          | 35                      | 0                       |
| Placa 3   | 10   | 24         | 23         | 19          | 44                      | 0                       |
| Placa 4   | 12   | 14         | 21         | 18          | 40                      | 0                       |
| Placa 5   | 12   | 17         | 14         | 22          | 40                      | 0                       |
| Placa 6   | 9  | 10         | 14         | 19          | 40                      | 0                       |
| Placa 7   | 12   | 14         | 18         | 23          | 41                      | 0                       |
| Placa 8   | 14   | 17         | 14         | 29          | 37                      | 0                       |
| Placa 9   | 14   | 10         | 16         | 22          | 36                      | 0                       |
| Placa 10  | 12   | 14         | 14         | 21          | 36                      | 0                       |
| Placa 11  | 10   | 10         | 18         | 22          | 35                      | 0                       |
| Placa 12  | 12   | 11         | 21         | 18          | 34                      | 0                       |
| Placa 13  | 11   | 14         | 18         | 16          | 36                      | 0                       |
| <b>Promedio del diámetro del halo de inhibición</b>           | <b>12</b>  | <b>14</b>  | <b>17</b>  | <b>20</b>   | <b>38</b>               | <b>0</b>                |

## ANEXO N° 07

### VALIDACION Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

| <b>PATOGENO</b><br><i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC 29213 | <b>CONCENTRACION DEL ACEITE ESENCIAL</b><br><i>Origanum vulgare</i> "OREGANO" |            |            |             | <b>CONTROL POSITIVO</b> | <b>CONTROL NEGATIVO</b> |
|---|---|------------|------------|-------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>N° de Muestras</b>   | <b>DIAMETRO DE HALO DE INHIBICION (mm)</b>                                    |            |            |             |                         |                         |
|   | <b>25%</b>  | <b>50%</b> | <b>75%</b> | <b>100%</b> | <b>Oxacilina</b>        | <b>Solución salina</b>  |
| Placa 1   |   |            |            |             |                         |                         |
| Placa 2   |   |            |            |             |                         |                         |
| Placa 3   |   |            |            |             |                         |                         |
| Placa 4   |   |            |            |             |                         |                         |
| Placa 5   |   |            |            |             |                         |                         |
| Placa 6   |   |            |            |             |                         |                         |
| Placa 7   |   |            |            |             |                         |                         |
| Placa 8   |   |            |            |             |                         |                         |
| Placa 9   |   |            |            |             |                         |                         |
| Placa 10  |   |            |            |             |                         |                         |
| Placa 11  |   |            |            |             |                         |                         |
| Placa 12  |   |            |            |             |                         |                         |
| Placa 13  |   |            |            |             |                         |                         |

Validado por Mg Jaime Polo Gamboa  
CBP 6951




Validado por: Dr. Juan Carlos Figueroa

Validado por: Dra María Ayala Ravelo

## ANEXO N° 08

Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas del *Origanum vulgare* “orégano” comparado con oxacilina 1ug, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, estudio in vitro

**TABLA DE COMPARACIONES MÚLTIPLES**

| Variable dependiente: |           | Extractos                  |                |       |                               |                 |
|-----------------------|-----------|----------------------------|----------------|-------|-------------------------------|-----------------|
| HSD Tukey             |           |                            |                |       |                               |                 |
|                       |           | Diferencia de medias (I-J) | Error estándar | Sig.  | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|                       |           |                            |                |       | Límite inferior               | Límite superior |
| (I) Grupos            |           |                            |                |       |                               |                 |
| 100%                  | 75%       | 2.923                      | 1.221          | 0.131 | -0.51                         | 6.36            |
|                       | 50%       | 6,154*                     | 1.221          | 0.000 | 2.72                          | 9.59            |
|                       | 25%       | 8,462*                     | 1.221          | 0.000 | 5.03                          | 11.89           |
|                       | Oxacilina | -17,538*                   | 1.221          | 0.000 | -20.97                        | -14.11          |
| 75%                   | 100%      | -2.923                     | 1.221          | 0.131 | -6.36                         | 0.51            |
|                       | 50%       | 3.231                      | 1.221          | 0.075 | -0.20                         | 6.66            |
|                       | 25%       | 5,538*                     | 1.221          | 0.000 | 2.11                          | 8.97            |
|                       | Oxacilina | -20,462*                   | 1.221          | 0.000 | -23.89                        | -17.03          |
| 50%                   | 100%      | -6,154*                    | 1.221          | 0.000 | -9.59                         | -2.72           |
|                       | 75%       | -3.231                     | 1.221          | 0.075 | -6.66                         | 0.20            |
|                       | 25%       | 2.308                      | 1.221          | 0.334 | -1.13                         | 5.74            |
|                       | Oxacilina | -23,692*                   | 1.221          | 0.000 | -27.13                        | -20.26          |
| 25%                   | 100%      | -8,462*                    | 1.221          | 0.000 | -11.89                        | -5.03           |
|                       | 75%       | -5,538*                    | 1.221          | 0.000 | -8.97                         | -2.11           |
|                       | 50%       | -2.308                     | 1.221          | 0.334 | -5.74                         | 1.13            |
|                       | Oxacilina | -26,000*                   | 1.221          | 0.000 | -29.43                        | -22.57          |
| Oxacilina             | 100%      | 17,538*                    | 1.221          | 0.000 | 14.11                         | 20.97           |
|                       | 75%       | 20,462*                    | 1.221          | 0.000 | 17.03                         | 23.89           |
|                       | 50%       | 23,692*                    | 1.221          | 0.000 | 20.26                         | 27.13           |
|                       | 25%       | 26,000*                    | 1.221          | 0.000 | 22.57                         | 29.43           |

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

**Fuente: Reporte de resultados SPSS versión 25**



**CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO DE TESIS**

El que suscribe, Jaime Polo Gamboa responsable del área de Investigación de la Facultad de Ciencias Médicas.

**Hace CONSTAR**

Que, el(la) estudiante Mariela Choque Yapu de esta Superior Casa de Estudios, solicitó los ambientes de la Universidad César Vallejo para la ejecución de su Proyecto de Tesis. Por lo que, se le brindó todas las facilidades para que realice su trabajo de investigación experimental e hizo uso de los laboratorios, instrumental y equipos para ejecutar su Proyecto de Tesis titulado:

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL *Origanum vulgare* (orégano)**  
**COMPARADO CON OXACILINA, SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC29213**

Utilizó el(los) laboratorio(s) de Microbiología desde el 18 de Noviembre hasta el 28 de Noviembre del año 2017.

Se expedido el presente a solicitud de la parte interesada sólo para fines académicos que estime conveniente.  
Dado en la ciudad de Trujillo a los 3 días del mes de Diciembre del año 2017.

Firma y sello:

  
Jaime A. Polo Gamboa  
MICROBIOLOGO  
COP 0001



## CONSTANCIA DE ASESORIA DE DESARROLLO DE TESIS

El que suscribe **Mg Luis Fernández Sosaya**, docente de Facultad de Ciencias Médicas, Escuela Académica Profesional de Medicina.

### CERTIFICA:

Que, de conformidad con el Reglamento para elaboración y evaluación de Ejecución de Tesis para obtener el título Profesional Médico Cirujano, del Alumno: **Mariela Choque Yapu**, de esta casa de estudios, está trabajando bajo mi asesoramiento el Desarrollo de Tesis titulado.

### **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL *Origanum vulgare* (orégano) COMPARADO CON OXACILINA, SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC29213**

Que será presentado para optar el título anteriormente mencionado.

En tal virtud, asumo el asesoramiento de dicho proyecto, en calidad de Asesor TECNICO, tarea voluntaria y de cooperación académica con la Escuela de Medicina.

Expedido el presente a solicitud de la parte interesada para los fines académicos que estime conveniente, la ciudad de Trujillo a los 29 días del mes de octubre del 2018.

RED ASISTENCIAL LA LIBERTAD  
CENTRO DE MEDICINA COMPLEMENTARIA  
Mg. José Luis Fernández Sosaya  
MEDICO CIRUJANO

Mg Luis Fernández Sosaya

CMP

2689



## CONSTANCIA DE ASESORÍA DE TESIS

El que suscribe **Dra. María Rocio Del Pilar Llaque Sánchez**, docente de la Facultad de Ciencias Médicas, Escuela Académico Profesional de Medicina.

### CERTIFICA:

Que, de conformidad con el Reglamento para elaboración y evaluación de Proyectos de Tesis para obtener el Título Profesional Médico Cirujano, del alumno: **Mariela Choque Yapu**, de esta casa de estudios, está trabajando bajo mi asesoramiento la Tesis titulado:

### **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL *Origanum vulgare* (orégano) COMPARADO CON OXACILINA, SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC29213**

Que será presentado para optar el Título anteriormente mencionado.

En tal virtud, asumo el asesoramiento de dicho proyecto, en calidad de Asesor METODOLÓGICO, tarea voluntaria y de cooperación académica con la Escuela de Medicina.

Expedido el presente a solicitud de la parte interesada para los fines académicos que estime conveniente, la Ciudad de Trujillo a los 16 días del mes de noviembre de 2018.

**Dra. María Rocio Del Pilar Llaque Sánchez**